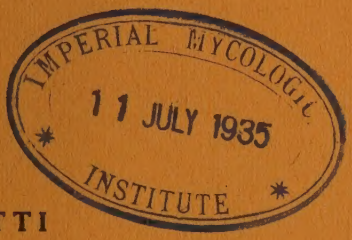
R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

OMAGGIO

102



G. LUCHETTI

SULLA BIOLOGIA DEL "CEPHALOSPORIUM SUBVERTICILLATUM" SCHULZ ET SACCARDO.

Estratto dal *Bollettino del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa*
Volume X - Anno 1934.

PISA, STAB. TIP. G. CURSI & FIGLI
1934 - XIII

G. LUCHETTI

SULLA BIOLOGIA DEL " CEPHALOSPORIUM SUBVERTICILLATUM „ SCHULZ ET SACCARDO.

Qualche tempo fa, VERONA ebbe occasione di isolare, da preparati vegetali conservati in petrolio, un Ifale mucedinaceo riferibile a *Cephalosporium subverticillatum* descritto per primi da SCHULZ e SACCARDO su materiale proveniente dalla Slavonia.

Della tollerabilità di questa specie, come di altre, di fronte al petrolio e della capacità di essa a potere ivi sviluppare in presenza di frammenti o parti di organi vegetali già allora fu dato cenno (1).

Data tale singolare attitudine si volle indagare se avesse analogo comportamento di fronte ad altri idrocarburi o ad altre sostanze, conducendo parallelamente alcune indagini generiche sulla sua biologia di cui si riferisce nella presente Nota (2).

Influenza della reazione del mezzo.

Per le presenti prove ci si valse del seguente liquido colturale:

nitrato potassio	10,—
saccarosio	20,—
fosfato bipotassico	1,—
cloruro di calcio	0,30
solfato di magnesio	0,30
cloruro sodico	0,10
cloruro ferrico	0,01
acqua	1000,—

(1) – VERONA O. – *Il " Cephalosporium subverticillatum „* SCHULZ et SACCARDO *quale idrocarburofilo.* Nuovo Giornale Botanico Italiano, N. S., vol. XXXIV, numero 4, 1932, pag. 674–677.

(2) Per la letteratura in proposito vedi
VERONA O. – loco citato.

la cui concentrazione idrogenionica si fece variare con opportune aggiunte di acido lattico e di carbonato sodico. Si coltivò, in Erlenmeyer da cc. 250 contenenti ciascuna cc. 100 di liquido colturale, per dieci giorni in termostato a 24° C. Indi si tolsero le membrane fungine che si essiccarono a 100° C. fino a costanza di peso e si pesarono; nello stesso tempo si determinò il pH finale del mezzo per osservare eventuali variazioni di reazione.

Risultò:

pH iniziale	3,9	4,7	4,9	5,5	6,8	8,1	8,7
peso delle membr. gr.	0,5872	*0,6200*	0,5417	0,4366	0,3437	0,3512	0,3936
pH finale	4 -	4 -	4,7	5,9	6 -	6,9	6,9

Lo sviluppo maggiore si verificò in mezzi acidi entro limiti compresi tra i valori di pH 4 e pH 5. D'altro canto, analogamente a quanto è stato già dimostrato per altre specie, il fungo, coltivato in mezzo acido tende, se pur non decisamente, ad alcalinizzare, mentre in mezzo alcalino tende ad acidificare. La tendenza alla acidificazione appare in in ogni modo prevalere, e del resto non è da escludere "a priori„ che la alcalinizzazione possa essere dovuta, ad esempio, ad una demolizione parziale dell'acido lattico aggiunto al mezzo di coltura.

Influenza della temperatura.

Colture allestite come le precedenti, salvo l'aver portato il pH del liquido a 4-5, furono mantenute a quattro diverse temperature ottenendone i risultati seguenti:

Temperatura	*8-10°C.*	*12-15°C.*	*24-25°C.*	*36-37°C.*
Peso delle membrane gr.	0,0257	0,0822	*0,7588*	0,2562

La temperatura migliore, fra quelle sperimentate, si dimostrò essere quella aggirantesi intorno ai 24-25° C.

Influenza della sorgente azotata.

Il liquido nutritivo base, privo di azoto, si addizionò di peptone,

asparagina, nitrato potassico o solfato ammonico in quantità tale da corrispondere ad un contenuto in azoto del 0,2 %. Si coltivò come in precedenza e si ottennero i risultati sotto indicati.

Sorgente azotata	*peptone*	*asparagina*	*nitrato potas.*	*solfato amm.*
Peso d. membr. gr.	0,8176	0,7604	0,3542	0,4850

L' azoto organico è, evidentemente, quello meglio utilizzato. Il fungo però si dimostrò capace di assimilare bene anche l'azoto minerale.

Influenza della sorgente di carbonio.

Si operò come nell' esperienza precedente, aggiungendo al liquido privo di saccarosio, diverse sorgenti energetiche in quantità tali da apportare l' 1 % di carbonio. Risultò :

Sorgente di carbonio:	*glucosio*	*sacc. galatt.*	*lattosio*	*alcool*	*glicerina*
Peso delle membr. gr.	0,2450	*0,7270*	0,4582	0,1570	sviluppo evidente ma imponderabile

Dei disaccaridi il più utilizzabile si dimostrò il saccarosio, dei monosaccaridi il galattosio; tra i due però più efficace il disaccaride. Il fungo assimilò scarsamente gli alcooli.

Colture in presenza di idrocarburi alifatici e aromatici e di altre sostanze.

Per questa esperienza si allestirono due serie parallele di Erlenmeyer contenenti diversi composti sotto elencati ; in una delle serie si inoculò il fungo senza altra aggiunta, in un' altra si posero, sommersi, dei pezzetti di foglie di alloro, sambuco e fava inoculati precedentemente con il fungo. Le beute furono chiuse con tappi di gomma e lasciate a temperatura ambiente per circa 40 giorni. I risultati ottenuti sono riportati qui sotto, indicandosi con (+) presenza, con (—) assenza di sviluppo.

	In presenza di foglie	In assenza di foglie
Petrolio	+	—
Benzina	—	—
Benzolo	—	—
Alcool etilico 95° (circa)	—	—
„ „ 50° „	+	—
„ amilico	—	—
Etere solforico	—	—
Cloroformio	—	—
Solfuro di carbonio	—	—
Olio di paraffina	+	—
Xilolo	—	—
Aldeide formica 40 %	—	—
„ „ 20 %	—	—
Acqua di conduttura (controllo)	+	—

Con ciò si dimostra che il *Cephalosporium subverticillatum* è capace di tollerare la presenza di petrolio ed olio di paraffina, altrettanto bene che l' acqua di conduttura, ma non è capace di utilizzarli come sorgenti trofiche, come è dimostrato dalle prove in assenza di foglie.

Esaminato al microscopio il fungo sviluppatosi in petrolio, olio di paraffina ed acqua fu trovato privo di fruttificazioni; trasportato su agar fagiuoli a becco di flauto si sviluppò normalmente.

Da notare che la vegetazione fungina ottenuta in questi mezzi di coltura fu costantemente ed unicamente sommersa; non si ebbero cioè feltri o coperte galleggianti sul liquido.

CONCLUSIONI

Riassumendo, le indagini condotte dimostrarono che fra le sorgenti plastiche azotate il fungo in esame pur assimilando anche quelle minerali predilige quelle organiche; fra le sorgenti energetiche la migliore di quelle prese in esame fu il saccarosio e poco utilizzate invece la glicerina e l'alcool etilico; che la temperatura più acconcia al suo sviluppo è, fra quelle studiate, quella di 24-25° C.; la concentrazione idrogenionica più adatta quella compresa tra pH 4 e pH 5. Inoltre il fungo ha dimostrato di tollerare, ma di non assimilare, petrolio ed olio di paraffina. Ciò del resto è stato segnalato anche da VERONA ([1]), per vari funghi e batteri, avendo questi rinvenuto in sostanze vegetali sommerse in benzina, petrolio e tetracloruro di carbonio i seguenti microrganismi: *Mucor* sp. *Rhizopus nigricans*, *Fusarium* sp., *Bac. ruminatus*, *Bac. subtilis*, *Bac. mycoides*, ed avendo inoltre dimostrato che oltre i sopra citati anche il *Fusarium herbarum* ed il *Tricothecium roseum* possono svilupparsi, in presenza di petrolio, su frammenti vegetali.

RIASSUNTO

L'A., indagando sulla biologia del *Cephalosporium subverticillatum* SCHULZ et SACCARDO, trovò che questo fungo preferisce, come di solito, mezzi acidi (pH 4 ÷ 5), si sviluppa a svariate temperature, con optimum a 24°-25° C.; assimila azoto combinato anche sotto forma minerale, non assimila carbonio dagli alcooli e, ciò che è più notevole, si sviluppa anche sommerso in petrolio ed in olio di paraffina, di cui però non assimila il carbonio.

Pisa, Laboratorio di Biologia vegetale
del R. Istituto Superiore Agrario

(Presentata il 18 Luglio 1934 - XII)

([1]) - VERONA O. - *Forme microrganiche rinvenute immerse in idrocarburi alifatici*. Nuovo Giornale Botanico Italiano, N. S. vol. XL, n° 1, 1933, pag. 181.